

高速液体クロマトグラフィーによる後発品ゾルピデム錠の 溶出試験

Evaluation for dissolution test between original and generic zolpidem tablets using
high-performance liquid chromatography

毎 熊 隆 誉¹
宮 本 裕 貴¹
竹 林 恒 平¹
三 宅 希 果¹
末 宗 悠 生²
池 田 光 真²
平 田 実 里²
深 井 裕 子¹
宮 口 良²
藤 原 孝 子²
増 田 憲 俊²
手 嶋 大 輔¹

MAIGUMA takayoshi¹ MIYAMOTO yuki¹,
TAKEBAYASHI kohei¹, MIYAKE nozomi¹,
SUEMUNE yuki², IKEDA mitsumasa²,
HIRATA misato², FUKAI yuko¹,
MIYAGUCHI ryo², FUJIWARA takako²,
MASUDA noritoshi², TESHIMA daisuke¹.

¹就実大学薬学部薬学科, ²金光薬品株式会社

1. 緒言

睡眠導入薬の中で最も頻用されているものの1つにゾルピデム酒石酸塩がある。ゾルピデムは超短時間型の非ベンゾジアゼピン系導眠薬で主として $\omega 1$ 受容体に選択的に作用する。また、筋弛緩に関与する $\omega 2$ 受容体への結合親和性が低いことから脱力や転倒などの副作用が少なく、高齢者にも使いやすいとされている。日本では平成24年6月よりゾルピデムの後発医薬品の販売が開始され、平成25年7月現在、規格や剤形の異なるものも含めて72品目が承認されている。

現在、日本では急速な少子高齢化や医療技術の向上により医療費の削減が求められている。その理由として高額ながん治療、抗体医薬品および新機序医薬品など多種多様な医薬品の使用が増加していることが挙げられる。このような状況下、後発医薬品は医療費削減において大きく貢献することが期待される。

後発医薬品は先発医薬品と同一成分を含有し、溶出試験および生物学的同等性試験の結果から市販が承認されたものである。先発医薬品のような多額の開発費を要していない分、安価に提供されている。日本政府は医療費削減のため後発医薬品の使用を積極的に押し進めているが、その使用率・普及率は国際的にみると非常に少ない。その背景として、日本では長い間、医薬品の「商品名」による処方が行われてきたことに対し、欧米では「一般名・成分名（ジェネリック・ネーム）」で処方され、ジェネリック医薬品を自由に選択できる体制が以前より整備されていたことが一因として挙げられる。平成20年4月より、日本でも処方せん様式が変更され、「後発医薬品への変更不可」の欄に処方医の記名がない場合には、薬剤師が患者の意思に基づいてジェネリック医薬品へ変更できるようになった。しかしながら、ジェネリック医薬品の使用率は依然として低い状況が続いている。その原因の1つとして後発医薬品では先発医薬品と添加物が異なる点が指摘されており、添加物による製剤放出性の違いや有効成分の安定性に及ぼす影響、および添加物によるアレルギーに対する不信感が存在している。

そこで今回、高速液体クロマトグラフィー（high-performance liquid chromatography; HPLC）を用いて製剤中の主成分の分離定量を行うことにより、精度の高い品質情報を得る目的から本研究を実施した。先発医薬品のマイスリー[®]錠10 mg および後発医薬品ゾルピデム酒石酸塩錠10 mg についてそれぞれ分離定量を行い、それらの溶出挙動における類似性について比較検討した。

2. 方法

2.1. 医薬品および試薬

使用した医薬品および試薬は全て特級品を用いた。各医薬品および試薬は以下の会社より購入した。マイスリー[®]錠10 mg（先発品、アステラス製薬株式会社、東京、Lot; H004F01）、ゾルピデム酒石酸塩錠10 mg（後発品）、Zolpidem 原末（Sigma-Aldrich Co., St. Louis, MO, USA, Lot; #079k46143）、トラゾドン塩酸塩（Wako Pure Chemical Industries, Ltd., 大阪, Lot; LAP0457）。アセトニトリル（Lot; 503H1725）、リン酸二水素カリウム（Lot; 307U1583）、酢酸（Lot; 312N1160）、およびメタノール（Lot; 503B1001）は KANTO CHEMICAL CO., INC.（東京）より購入した。また以下の試薬は NACALAI TESQUE, INC.（京都）より購入した。酢酸ナトリウム（Lot; M3N3687）、塩酸（Lot; V2F8238）、塩化ナトリウム（Lot; V6G9919）、無水クエン酸（Lot; M0T4224）、リン酸水素二ナトリウム・12水和物（Lot; M2B7287）。

2-2. 溶出試験法

試験法には、第十六改正日本薬局方の溶出試験第1液（塩化ナトリウム2.0 gを塩酸7.0 mL及び水に溶かして1000 mLとした。以下 pH 1.2の試験液）、および、溶出試験第2液（0.025 Mのクエン酸と0.05 Mのリン酸水素二ナトリウム・12水を185：500を目安に混合し、pHメーター（HORIBA）により pH 6.8を確認後、1容量に対して水1容量を加えた）を用いた。また、pH 4.0の酢酸・酢酸ナトリウム緩衝液の調製は、1.0 Mの酢酸と0.05 Mの酢酸ナトリウムを用い、それらの混合比を変えることで pH を調節した。使用機器および器具として、富山産業株式会社（大阪）より購入した溶出試験器：NAT-6100A DISSOLUTION TESTER、オートサンプラー：PAS-615 AUTO SAMPLER-W、およびフィルター：Fine Filter F-72を用いた。溶出試験の試験条件として、医薬品の品質再評価に関わる公的溶出試験¹⁾ および後発品医薬品の生物学的同等性試験ガイドライン²⁾ に示された、「中性又は塩基性薬物、コーティング製剤」の試験条件をゾルピデム酒石酸塩錠 [Zolpidem Tartrate(JAN), zolpidem(INN), pKa1 = 2.84(カルボキシル基), pKa2=3.96(カルボキシル基), pKa3=6.35 (イミダゾール基)] の溶出試験に適応した (Table 1)。

Table 1 中性又は塩基性薬物を含む製剤、コーティング製剤におけるパドル法の条件

回転数(rpm)	pH
50	① 1.2*
	② 3.0~5.0*
	③ 6.8*
	④ 水*
100	① ②、③のうちのいずれか一つ

※標準製剤が規定された試験時間以内に平均 85%以上溶出する条件で、溶出の遅い試験液を選択する。いずれの試験液においても、標準製剤が規定された試験時間以内に平均 85%溶出しない場合には、最も速い試験液を選択する。

2-3. HPLC 法における溶出濃度測定

移動相の組成として、アセトニトリル：50 mM リン酸二水素カリウム（pH 6.0）が4：6となるように調製した。各種液を混合した後、超音波で20分間脱気した。HPLC の使用機器として島津製作所（京都）より購入した機器を使用した。ポンプ：LC-10AD、カラムオープン：CTO-10Avp、検出器：SPD-M10Avp。また、カラムはTSK-GEL ODS-80Tm(TOSOH, 東京)を使用した。測定条件として、流量：1.4 mL/min、検出波長：242 nm、カラム温度：40℃、注入量：40 µLで行ない、内部標準物質としてトラゾドン塩酸塩を用いた。

2-4. 溶出挙動の類似性の判定

先発医薬品と後発医薬品における溶出挙動の類似性の判定は、後発医薬品の生物学的同

等性試験ガイドラインに従って行った²⁾。

このガイドラインには製剤の溶出のしやすさに応じて判定基準が設定されている。ゾルピデム酒石酸塩錠の先発医薬品であるマイスリー錠はこの内、最も溶けやすい薬物に位置し、溶出試験15分における平均溶出率が85 % 以上、または、先発医薬品との差が15 % 以内であるとき後発医薬品の溶出挙動は先発医薬品と類似であると判定した。

3. 結果

3-1. HPLC によるゾルピデムの分離状況

Fig. 1にゾルピデム (15 µg/mL) のクロマトグラムを示す。ゾルピデムの保持時間は約5.1分、およびトラゾドンには約8.2分にピークが得られた。これらのピークは完全に分離しており、夾雑物のないものであった。

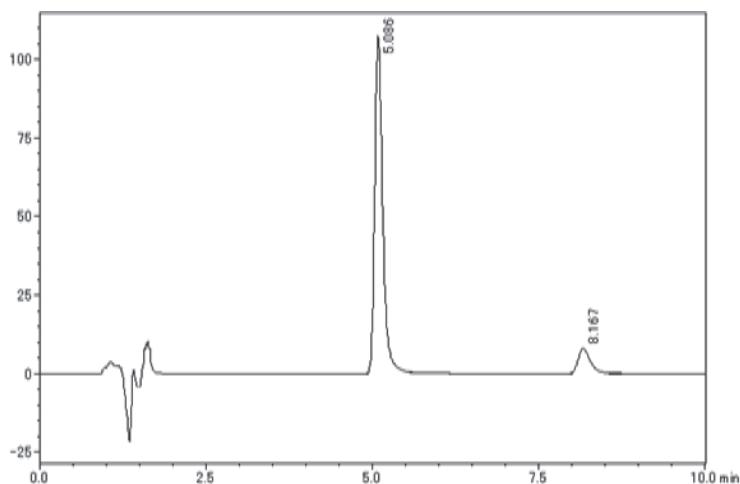


Fig. 1 HPLC にて測定したゾルピデムおよびトラゾドンのクロマトグラム。
保持時間：5.086 min (ゾルピデム 15 µg/mL)、8.167 min (トラゾドン 5 µg/mL)。

3-2. HPLC による測定精度

HPLC の検量線を Fig. 2に示す。相関係数は $r = 0.99998$ となり、良好な直線性が得られた。

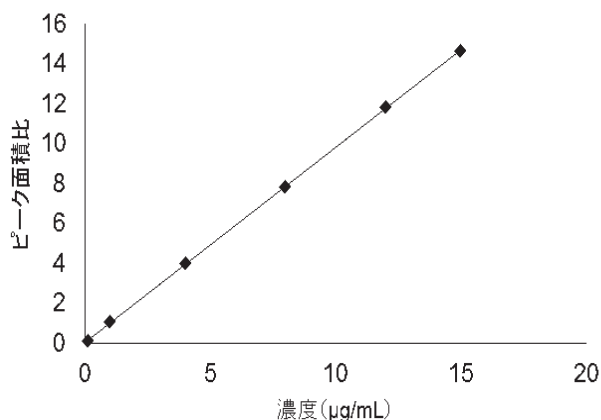


Fig. 2 ギルピデムの検量線 $y = 0.97568x + 0.05229$, $r = 0.99998$

ギルピデムの HPLC 法による再現性をみるために、日内・日間における変動係数および回収率を算出した。日内における変動係数は0.96–2.52% で、日間における変動係数は2.80–4.01% であり、これらは5% 以内であった。一方、そのときの回収率は日内で100.18–103.93%、日間で99.13–101.75% であり、ほぼ100% に近い回収率が得られた (Table 2)。

Table 2 HPLC によるギルピデム濃度の日内・日間変動

a. 日内変動 $n=5$

濃度 (µg/mL)	定量濃度 (µg/mL)	回収率 (%)
10	10.02 ± 0.25 (2.52)	100.18%
2.5	2.60 ± 0.02 (0.96)	103.93%

Mean ± SD、(): 変動係数

b. 日間変動 $n=5$

濃度 (µg/mL)	定量濃度 (µg/mL)	回収率 (%)
10	9.91 ± 0.40 (4.01)	99.13%
2.5	2.54 ± 0.07 (2.80)	101.75%

Mean ± SD、(): 変動係数

3-3. HPLC による先発および後発医薬品における溶出率の比較

先発医薬品と後発医薬品の各試験条件における溶出挙動を Fig. 3 に示す。

ギルピデムの公的溶出試験で定められている規定時間は15分である。その時間における溶出率 (平均値) は、試験液が pH1.2 溶液の場合に先発医薬品 (50 rpm) で87.3% および後発医薬品 (50 rpm) で98.5% となった。回転数を100 rpm とすると、先発医薬品および後発医薬品はそれぞれ101.7% および91.9% となった。試験液が pH4.0 のときにはそれぞれ

91.9%（先発医薬品）および86.5%（後発医薬品）となり、pH6.8では90.7%（先発医薬品）および87.0%（後発医薬品）、蒸留水では85.0%（先発医薬品）および88.4%（後発医薬品）となった（Fig. 3）。

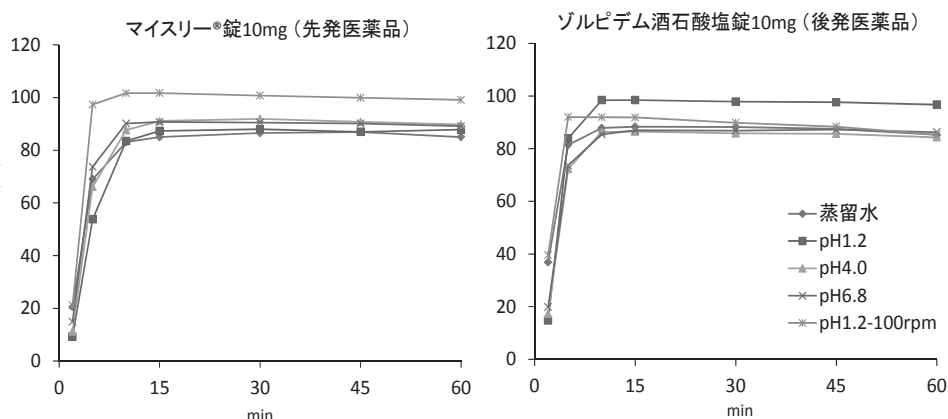


Fig.3 先発医薬品および後発医薬品の各試験液条件における溶出挙動

後発医薬品の生物学的同等性試験ガイドラインにおける溶出挙動の類似性の判定に従い、マイスリー®錠100 mg を標準製剤として、後発医薬品の類似性の判定を行った。その結果、すべての条件において先発医薬品と後発医薬品の溶出挙動は類似であることが確認された（Table 3）。

4. 考察

ゾルピデムの分離状況および検量線の直線性（相関係数）から本 HPLC の測定条件は適切なものと考えられる。また、HPLC によるゾルピデムの測定精度に関して、日内変動および日間変動におけるそれぞれの回収率は100% 前後および変動係数は5% 以内であり、高い測定精度が確認された。

後発医薬品の生物学的同等性試験ガイドライン²⁾に従い、溶出挙動の類似性を判定した。その結果、すべての試験条件下において溶出率が85%以上であり、先発医薬品と後発医薬品との溶出率の差が15%以内と溶出挙動の類似性が認められた。また、先発医薬品と後発医薬品の添加物について比較したところ（Table 4）、後発医薬品には滑沢剤であるタルクが追加されている。今回の HPLC を用いた検討では添加物を分離し、精製されたゾルピデム酒石酸塩として検出しており、また、結果として溶出挙動にも差がなかったことから、先発医薬品と後発医薬品は製剤特性が等しく、同等な催眠効果が得られる可能性が示唆された。

一方、加藤らは、実験動物を用いて、後発医薬品の添加物の違いによる薬理作用につい

Table 3 生物学的同等性試験ガイドラインに基づいた溶出挙動の類似性の判定結果

a. pH 1.2試験液 (50 rpm)

	15分後の溶出率 (%)	標準製剤との差 (%)	判定
マイスリー [®] 錠 10 mg	87.3	—	—
ゾルピデム酒石酸塩錠 10 mg	98.5	11.2	類似

※15分における試験製剤の平均溶出率は85%以上、又標準製剤との差が15%以内であるとき類似。

b. pH 1.2試験液 (100 rpm)

	15分後の溶出率 (%)	標準製剤との差 (%)	判定
マイスリー [®] 錠 10 mg	101.7	—	—
ゾルピデム酒石酸塩錠 10 mg	91.9	9.8	類似

※15分における試験製剤の平均溶出率は85%以上、又標準製剤との差が15%以内であるとき類似。

c. pH 4.0試験液 (50 rpm)

	15分後の溶出率 (%)	標準製剤との差 (%)	判定
マイスリー [®] 錠 10 mg	91.1	—	—
ゾルピデム酒石酸塩錠 10 mg	86.5	4.6	類似

※15分における試験製剤の平均溶出率は85%以上、又標準製剤との差が15%以内であるとき類似。

d. pH 6.8試験液 (50 rpm)

	15分後の溶出率 (%)	標準製剤との差 (%)	判定
マイスリー [®] 錠 10 mg	90.7	—	—
ゾルピデム酒石酸塩錠 10 mg	87.0	3.7	類似

※15分における試験製剤の平均溶出率は85%以上、又標準製剤との差が15%以内であるとき類似。

e. 蒸留水 (50 rpm)

	15分後の溶出率 (%)	標準製剤との差 (%)	判定
マイスリー [®] 錠 10 mg	85.0	—	—
ゾルピデム酒石酸塩錠 10 mg	88.4	3.4	類似

※15分における試験製剤の平均溶出率は85%以上、又標準製剤との差が15%以内であるとき類似。

Table 4 先発医薬品と後発医薬品における添加物

a. マイスリー[®]錠

乳糖水和物、結晶セルロース、デンプングリコール酸ナトリウム
 ヒプロメロース、ステアリン酸マグネシウム、酸化チタン
 マクロゴール、黄色三二酸化鉄、三二酸化鉄
 カルナウバロウ

b. ゾルピデム酒石酸塩錠

乳糖水和物、結晶セルロース、デンプングリコール酸ナトリウム
 ヒプロメロース、ステアリン酸マグネシウム、酸化チタン
 マクロゴール 6000、黄色三二酸化鉄、三二酸化鉄
 カルナウバロウ、タルク

て検討したところ、用いた催眠導入薬の中でもプロチゾラムの後発医薬品においては先発医薬品との同等性は認められなかったとしている。しかしながら、動物実験の結果はヒトでの臨床研究の結果よりも薬効差がより大きく現れるため、必ずしもヒトに反映されるわけではないとも報告されている³⁾。以上より、今後はヒトによる臨床薬理研究や服用者のQOL尺度を用いた客観性のあるアンケート調査などが必要となると思われる。

本検討で用いたゾルピデムのようなプラセボ効果が薬効に影響しやすい催眠導入薬は、先発医薬品を変更することで不眠を訴えるようになるなど、患者のQOLに影響しやすい薬剤であり、後発医薬品の普及が進みにくい薬物の一つである。医薬品医療機器総合機構(PMDA)が行っている後発医薬品に関する相談にも、後発医薬品に対して「漠然とした不安を抱いている」や「効果への不安がある」といった相談内容が挙げられている⁴⁾。しかし、今回、用いた後発医薬品は剤型、大きさ、色、PTP包装が類似しており(Fig. 4)、後発医薬品に移行する際、患者側としても受け入れやすいものと思われる。今後、患者が先発医薬品にこだわる心因的な理由、および後発医薬品への切り替えにより生じる不眠の原因についての更なる検討が望まれる。実際、投薬の場においても、催眠効果には主観的な部分が大いに含まれるため、患者に後発医薬品を勧める場合には眠れるかどうかの不安感を抱かせないような十分な説明・配慮が必要になるとと思われる。

a. マイスリー®錠 10 mg (先発医薬品)



b. ゾルピデム酒石酸塩錠 10 mg (後発医薬品)



Fig.4 ゾルピデム酒石酸塩10 mg の外観比較

5. 参考文献

1. オレンジブック総合版ホームページ 公的溶出試験 (H19.2.28)
2. 後発医薬品の生物学的同等性試験ガイドライン等の一部改正について (薬食審査発 0229第10号 平成24年2月29日)
3. 加藤洋美, 吉井美智子, 小澤光一郎, 後発医薬品の適正使用と医薬品添加物に関する研究, YAKUGAKU ZASSI, 127 (12) 2035—2044 (2007)
4. PMDA 総合機構後発医薬品相談 (平成19年度)